

2º simpósio nacional de fruticultura

2010



Associação
Portuguesa de
Horticultura



Instituto Politécnico de Castelo Branco
Escola Superior Agrária



Actividade sequestrante de radicais livres do medronho (*Arbutus unedo* L.)

Ivo Oliveira; José Alberto Pereira; Albino Bento; Paula Baptista

CIMO/Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança, Campus Sta Apolónia, Apartado 1172, 5301-855 Bragança, Portugal. pbaptista@ipb.pt

Resumo

O medronho é um fruto usado no fabrico de bebidas alcoólicas, geleias e doces. A sua composição química apresenta elevados teores de açúcares, minerais, e uma grande quantidade de compostos com actividade antioxidante com comprovados efeitos benéficos na saúde humana. No presente trabalho teve por objectivo avaliar a actividade antioxidante do medronho. Para tal, em extractos metanólicos foi quantificado o teor em fenóis totais, e a actividade antioxidante através dos métodos do poder redutor, do efeito bloqueador de radicais de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) e do efeito sequestrante de radicais superóxido. O teor de fenóis totais observado nas amostras de medronho foi de $43,66 \pm 5,12$ meq. de ácido gálico/g de extracto. Os valores de EC_{50} obtidos para o poder redutor e para o efeito bloqueador de radicais superóxido foi de, respectivamente $1,83 \pm 0,18$ mg/mL e $2,66 \pm 1,44$ mg/g de extracto. Na avaliação do efeito bloqueador de radicais de DPPH, foi determinado o valor de EC_{25} , que correspondeu a $0,69 \pm 0,33$ mg/g de extracto.

Palavras-chave: *Arbutus unedo*, medronho, fenóis totais, actividade antioxidante.

Abstract

Title: Scavenging capacity of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruits on free radicals

Strawberry tree fruits are commonly used to produce alcoholic beverages, or as ingredients in jams or jellies. In their composition are present high amounts of sugars, mineral, in addition to a large variety of compounds with antioxidant ability, which have been related to have beneficial effects in human health. In the present work we evaluated the antioxidant activity of strawberry tree fruits. Thus, we have quantified total phenolics, and the antioxidant activity was evaluated using three different methods, namely the reducing power, scavenging effect on DPPH radical (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) and scavenging effect on superoxide radicals. The total phenols content observed in strawberry tree fruits extracts was $43,66 \pm 5,12$ meq. of Gallic Acid/g of extract. The EC_{50} values obtained in the reducing power assay and in the scavenging effect on superoxide radicals were, respectively $1,83 \pm$

0,18 mg/g of extract and $2,66 \pm 1,44$ mg/g of extract. For the scavenging effect on DPPH radical, it was calculated the EC_{25} that was $0,69 \pm 0,33$ mg/g of extract.

Key-words: *Arbutus unedo*, strawberry fruits, total phenols, antioxidant activity.

Introdução

O medronho, fruto do medronheiro (*Arbutus unedo* L.), é um fruto pequeno, esférico, de cor vermelha e de gosto adstringente antes da completa maturação. Apesar de serem pouco consumidos em fresco, estes frutos são usados essencialmente no fabrico de bebidas alcoólicas, geleias e compotas (Simonetti et al., 2008; Pawlowska et al., 2006).

Aos medronhos têm sido atribuídos efeitos benéficos na saúde humana, devido principalmente às suas propriedades anti-sépticas, diuréticas e laxantes (Ziyyat e Boussairi, 1998; Pallauf et al., 2008). Estas propriedades derivam sobretudo da sua composição química, rica em compostos com propriedades antioxidantes, como sejam fenóis, vitaminas (C e E), carotenóides e ácidos orgânicos (Alarcão-e-Silva et al., 2001; Kivçak e Mert, 2001; Pawlowska et al., 2006; Males et al., 2006; Pallauf et al., 2008). O fruto caracteriza-se ainda por apresentar elevados teores em açúcares, até 52% do seu peso seco (Alarcão-e-Silva et al., 2001; Ayaz et al., 2000), e minerais como o potássio e cálcio (Özcan e Haciseferoğulları, 2007).

Nos últimos anos tem-se assistido a uma intensiva procura de antioxidantes naturais. Este facto, deriva da importância que estes compostos possuem como agentes protectores contra a produção de radicais livres, como o anião superóxido ($O_2^{\bullet-}$) e radicais hidróxilo (HO^{\bullet}). As células humanas possuem mecanismos de defesa, enzimáticos e não enzimáticos, que regulam a concentração intracelular destes radicais livres (Subhasree et al., 2006). No entanto, quando as defesas celulares não são suficientes, a introdução na nossa dieta de compostos antioxidantes assume grande importância por aumentar a protecção contra o stress oxidativo.

Compostos com actividade antioxidante têm sido encontrados em vegetais, sementes oleaginosas, cereais, frutos e plantas medicinais (Abdel-Hameed, 2009). Relativamente ao medronheiro, apesar de existirem alguns trabalhos realizados neste âmbito nas folhas desta espécie (Oliveira et al., 2009; Kivçak e Mert, 2001; Pabuçcuoğlu et al., 2003), muito pouco se sabe da capacidade antioxidante dos frutos. Assim, este trabalho teve por objectivo avaliar a actividade antioxidante do medronho, determinada através do método do poder redutor, do efeito bloqueador de radicais livres de DPPH e do efeito bloqueador de radicais superóxido.

Material e métodos

Amostras e preparação dos extractos

Os frutos de medronheiro foram colhidos em Vila Real, em Novembro de 2008. Após congelação, os medronhos foram liofilizados e triturados. Foram recolhidas três amostras (25 g/amostra) e procedeu-se à sua extracção em etanol a 96% durante 6 horas. Após filtração, os extractos foram evaporados sob vácuo e dissolvidos em tampão fosfato (pH 7,4), para uma concentração de 50mg/ml.

Determinação de fenóis totais

Os fenóis totais foram determinados seguindo o procedimento descrito por Singleton e Rossi (1965), na presença do reagente de Folin e Ciocalteu's usando como padrão o ácido gálico. Os resultados foram expressos em mequivalentes de ácido gálico/g de extracto.

Avaliação da actividade antioxidante

O poder redutor dos extractos foi avaliado usando o método descrito por Berker et al. (2007). Para tal, várias concentrações de extracto foram misturadas com compostos férricos e, em seguida, foi lida a absorvência a 700 nm. A concentração de extracto que obteve um valor de absorvência igual a 0,5 (EC_{50}) foi calculada através do gráfico concentração vs absorvência.

O efeito bloqueador dos extractos em radicais livres de DPPH foi efectuado de acordo com o método de Oyaizu (1986). Várias concentrações de extracto foram misturadas com uma solução metanólica de DPPH. Em seguida avaliou-se a redução do radical de DPPH pela medição do decréscimo de absorvência a 517 nm. O efeito sequestrador de radicais de DPPH foi calculado usando a seguinte equação: $\% \text{ efeito sequestrador} = [(ADPPH-AS)/ADPPH] * 100$, onde AS corresponde à absorvência da mistura do extracto e solução de DPPH, e ADPPH corresponde à absorvência da solução de DPPH. A concentração de extracto que obteve 25% de inibição foi calculada através do gráfico de percentagem de inibição vs concentração.

O efeito bloqueador de radicais superóxido foi realizado através do sistema PMS-NADH-NBT, descrito por Fernandes et al. (1999). Várias concentrações de extracto foram misturadas com uma solução de NADH, NBT e PMS. As mudanças na absorvência foram, em seguida, avaliadas a 560 nm durante 3 min. A actividade bloqueadora de radicais superóxido foi calculada do seguinte modo: $(\Delta A_{560} \text{ nm/min}_{\text{branco}} - \Delta A_{560} \text{ nm/min}_{\text{amostra}}) / \Delta A_{560} \text{ nm/min}_{\text{branco}} * 100\%$. EC_{50} indica a concentração para 50% de inibição do radical.

Resultados e discussão

No presente trabalho verificou-se que o medronho apresenta quantidades consideráveis de fenóis totais, apresentando valores de $43,66 \pm 5,12$ mequivalentes de ácido gálico/g de extracto. Trabalhos anteriores referem igualmente um alto teor de outros compostos antioxidantes como derivados de ácido gálico e flavonóides (Pawlowska et al., 2006), bem como de carotenóides, vitamina C e vitamina E (Pallauf et al., 2008).

Nos vários ensaios de actividade antioxidante, realizados em extractos etanólicos de medronho, verificou-se que a actividade antioxidante dos extractos avaliados era directamente dependente da concentração em que era testado (Figuras 1, 2 e 3). Os valores de EC_{50} obtidos para o poder redutor ($1,83 \pm 0,18$ mg/ml, Figura 1) e para o efeito bloqueador de radicais superóxido ($2,66 \pm 1,44$ mg/g, Figura 3) foram melhores do que os obtidos para o efeito bloqueador de radicais livres de DPPH. Neste último ensaio, a amostra mostra um aumento constante da actividade sequestrante dos radicais de DPPH até à concentração de 1mg/mL de extracto (Figura 2). Acima dessa concentração, o efeito manteve-se constante, nunca alcançando valores superiores a 50% de inibição do radical, considerando-se assim o valor de EC_{25} . Este valor foi de $0,69 \pm 0,33$ mg/ml.

Os resultados obtidos mostram que os extractos de medronho possuem quantidades não negligenciáveis de compostos fenólicos e exibem actividade antioxidante contra radicais livres. Estes resultados sugerem que o medronho é uma fonte de antioxidantes naturais, e a sua introdução na dieta humana, quer através do consumo directo, quer indirectamente pela inclusão em geleias e compotas, entre outras, pode auxiliar o sistema endógeno protector contra a produção de radicais.

Referências

- Alarcão-E-Silva M., Leitão A.E.B., Azinheira H.G., Leitão M.C.A. (2001). The Arbutus Berry: Studies on its Color and Chemical Characteristics at Two Mature Stages. J. Food Comp. Anal., 14, 27-35.
- Ayaz, F., Kucukislamoglu, M., Reunanen, M. (2000). Sugar, Non-volatile and Phenolic Acids Composition of Strawberry Tree (*Arbutus unedo* L. var. *ellipsoidea*) Fruits. J. Agric. Food Chem., 13, 171-177.
- Berker, K., Güçlü, K., Tor, I., Apak, R. (2007). Comparative evaluation of Fe (III) reducing power-based antioxidant capacity assays in the presence of phenanthroline, batho-phenanthroline, tripyridyltriazine (FRAP), and ferricyanide reagents. Talanta, 72, 1157-1165.
- Fernandes, E., Borges, F., Milhazes, N., Carvalho, F. D., Bastos, M. L. (1999). Evaluation of superoxide radical scavenging activity of gallic acid and its alkyl esters using an enzymatic and a non-enzymatic system. Toxicol Lett., 109, 42.

- Kivçak, B., and Mert, T., 2001. Quantitative determination of α -tocopherol in *Arbutus unedo* by TLC-densitometry and colorimetry. *Fitoterapia*, 72, 656-661.
- Males, Z., Plazibat, M., Vundac, V.B., Zunta, I., 2006. Qualitative and quantitative analysis of flavonoids of the strawberry tree – *Arbutus unedo* L. (Ericaceae). *Acta Pharm.*, 56, 245-250.
- Oliveira, I., Coelho, V., Baltasar, R., Pereira, J., Baptista, P., 2009. Scavenging capacity of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) leaves on free radicals. *Food Chem. Toxic.*, 47, 1507-1511.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reactions: Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japan. J Nutr.*, 44, 307-315.
- Özcan, M., Haciseferoğulları, H. (2007). The Strawberry (*Arbutus unedo* L.) fruits: Chemical composition, physical properties and mineral contents. *J. Food Eng.*, 78, 1022-1028.
- Pabuçcuoğlu A., Kivçak, B., Baş, M., Mert, T. (2003). Antioxidant activity of *Arbutus unedo* leaves. *Fitoterapia*, 74, 597-599.
- Pallauf, K., Rivas-Gonzalo, J.C., Castillo, M.D., Cano, M.P., Pascual-Teresa, S. (2008). Characterization of the antioxidant composition of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruits. *J. Food Comp. Anal.*, 21, 273-281.
- Pawlowska, A. M., De Leo, M., Braca, A. (2006.) Phenolics of *Arbutus unedo* L. (Ericaceae) Fruits: Identification of Anthocyanins and Gallic Acid Derivatives. *J. Agric. Food Chem.*, 54, 10234-10238.
- Simonetti, M., Damiani, F., Gabrielli, L., Cossignani, L., Blasi, F., Marini, F., Montesano, D., Maurizi, A., Ventura, F., Bosi, A., Damiani, P. (2008). Characterization of triacylglycerols in *Arbutus unedo* L. seeds. *Ital. J. Food Sci.*, 20, 49-56.
- Singleton, V. L., Rossi, J. A. Jr. (1965). Colorimetric of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, 16, 144-158.
- Subhasree, B., Baskar, R., Laxmi, R., Lijina, R., Rajasekaran, P., 2009. Evaluation of antioxidant potential in selected green leafy vegetables. *Food Chem.*, 115, 1213-1220.
- Ziyyat, A., Boussairi, E., 1998. Cardiovascular effects of *Arbutus unedo* L. in spontaneously hypertensive rats. *Phytother Res.*, 12, 110-113.

Quadros e Figuras

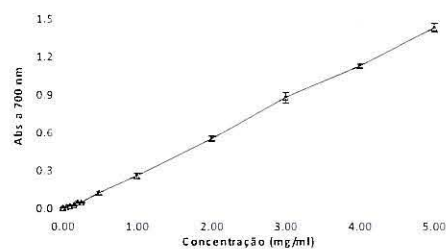


Figura 1 – Valores médios (\pm ep) de poder redutor obtidos a diferentes concentrações de extracto etanólico de medronhos.

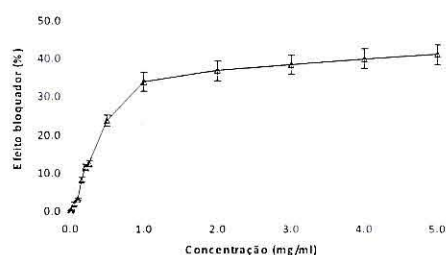


Figura 2 – Valores médios (\pm ep) do efeito bloqueador de radicais de DPPH (%) obtidos a diferentes concentrações de extracto etanólico de medronhos.

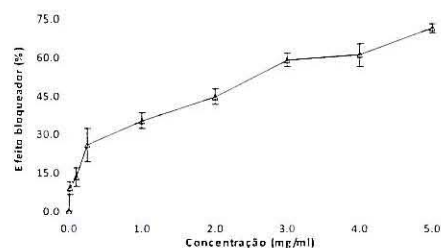


Figura 3 – Valores médios (\pm ep) do efeito bloqueador de radicais superóxido (%) obtidos a diferentes concentrações de extracto etanólico de medronhos.

Apoio:

APPIZÉZERE
AAPIM
Cerfundão
DRAPC
ESA/IPVC
INRB, IP/L-INIA
UBI

FCT Fundação para a Ciência e a Tecnologia

MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E ENSINO SUPERIOR

Patrocínios:



ISBN: 978-972-8936-08-2